

1/7/3

DIALOG(R)File 350:Derwent WPIX

(c) 2006 Thomson Derwent. All rts. reserv.

012307508

WPI Acc No: 1999-113614/199910

Preparation of aqueous solution of alkali (optionally earth) metal salt of L-aspartic acid - comprises enzyme reaction of aspartase and fumaric acid in presence of ammonia

Patent Assignee: MITSUBISHI CHEM CORP (MITU)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
-----------	------	------	-------------	------	------	------

JP 10337195	A	19981222	JP 97147574	A	19970605	199910 B
-------------	---	----------	-------------	---	----------	----------

Priority Applications (No Type Date): JP 97147574 A 19970605

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
-----------	------	-----	----	----------	--------------

JP 10337195	A	J	13	C12P-013/20	
-------------	---	---	----	-------------	--

Abstract (Basic): JP 10337195 A

A method for the preparation of an aqueous solution of an alkali (optionally earth) metal salt of L-aspartic acid comprising subjecting fumaric acid to an enzymatic reaction using aspartase or a microbe containing aspartase in an aqueous medium in the presence of ammonia. The resultant aqueous solution of ammonium L-aspartate is mixed with an alkali hydroxide compound and then distilled.

ADVANTAGE - The method efficiently prepares an alkali (optionally earth) metal salt of L-aspartic acid.

Dwg.0/0

Derwent Class: B05; D16; E16

International Patent Class (Main): C12P-013/20

International Patent Class (Additional): C07C-227/08; C07C-227/32;

C07C-227/38; C07C-229/24; C07C-233/47; C07C-271/22; C07C-309/49;

C12P-013/20; C12R-001-13

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-337195

(43) 公開日 平成10年(1998)12月22日

(51) Int. Cl. ⁶	識別記号	F I
C12P 13/20		C12P 13/20
C07C227/08		C07C227/08
227/32		227/32
227/38		227/38
229/24		229/24

審査請求 未請求 請求項の数14 O L (全13頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平9-147574	(71) 出願人	000005968 三菱化学株式会社 東京都千代田区丸の内二丁目5番2号
(22) 出願日	平成9年(1997)6月5日	(72) 発明者	加藤 尚樹 三重県四日市市東邦町1番地 三菱化学株 式会社四日市総合研究所内
		(72) 発明者	森 義昭 三重県四日市市東邦町1番地 三菱化学株 式会社四日市総合研究所内
		(72) 発明者	渡辺 尚之 三重県四日市市東邦町1番地 三菱化学株 式会社四日市総合研究所内
		(74) 代理人	弁理士 長谷川 暁司

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法

(57) 【要約】

【課題】 工業的に有用なL-アルパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液を安価に製造し、かつN-置換アルパラギン酸をも効率よく製造する方法を提供する。

【解決手段】 フマル酸を水性媒体中でアンモニア存在下、アスパルターゼあるいはアスパルターゼを含有する微生物を用いて酵素反応して得られたL-アスパラギン酸アンモニウム水溶液と、水酸化アルカリ化合物とを混合し、次いで脱アンモニア蒸留することを特徴とするL-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 フマル酸を水性媒体中でアンモニア存在下、アスパルターゼあるいはアスパルターゼを含有する微生物を用いて酵素反応して得られた L-アスパラギン酸アンモニウム水溶液と、水酸化アルカリ化合物とを混合し、次いで脱アンモニア蒸留することを特徴とする L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法。

【請求項 2】 脱アンモニア蒸留の際に混合する水酸化アルカリ化合物の量が、水性媒体中に含まれる L-アスパラギン酸アンモニウムに対して 0.5～4.0 モル当量であることを特徴とする請求項 1 記載の L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法。

【請求項 3】 脱アンモニア蒸留後の残留アンモニア量が、水性媒体中に含まれる L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩の L-アスパラギン酸換算重量に対して、500 ppm 以下となるまで脱アンモニア蒸留を行うことを特徴とする請求項 1 または 2 記載の L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法。

【請求項 4】 脱アンモニア蒸留を、水性媒体中に含まれる L-アスパラギン酸塩の L-アスパラギン酸換算の濃度が 15 重量%以上になるまで行うことを特徴とする請求項 1～3 のいずれか 1 項記載の L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法。

【請求項 5】 脱アンモニア蒸留の際に混合する水酸化アルカリ化合物が、水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウムのうちいずれかより選定されることを特徴とする請求項 1～4 のいずれか 1 項記載の L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法。

【請求項 6】 脱アンモニア蒸留後の水性媒体の pH が、7～11であることを特徴とする請求項 1～5 のいずれか 1 項記載の L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法。

【請求項 7】 フマル酸を水性媒体中でアンモニア存在下、アスパルターゼあるいはアスパルターゼを含有する微生物を用いて酵素反応して得られた L-アスパラギン酸アンモニウム水溶液と、水酸化アルカリ化合物とを混合し、次いで脱アンモニア蒸留し、更に炭素求電子剤を作用させることを特徴とする N-置換アスパラギン酸又はその塩の製造法。

【請求項 8】 炭素求電子剤がアルキル化剤、アシル化剤またはアルコキシカルボニル化剤であることを特徴とする請求項 7 記載の製造法。

【請求項 9】 炭素求電子剤が

1) 分子内に 2 個以上のハロゲン原子を有する炭化水素化合物、

2) 分子内に 1 個以上のハロゲン原子と 1 個以上のキレート性官能基もしくは化学変換により容易にキレート性官能基に変換できる官能基を有する化合物、

3) 分子内に 1 個以上のエポキシ基を有する化合物、

4) 分子内にアミノ基が付加反応することのできる 1 個以上の不飽和基と 1 個以上のキレート性官能基もしくは化学変換により容易にキレート性官能基に変換できる官能基を含む化合物、

5) カルボニル化合物とシアン化合物の組み合わせ、

6) カルボニル化合物と水素化剤の組み合わせ、

7) アルデヒド類とフェノール化合物の組み合わせから選ばれるものであることを特徴とする請求項 7 または 8 記載の製造法。

【請求項 10】 炭素求電子剤が、1,2-ジクロロエタン、1,2-ジブromoエタン、クロロ酢酸、ブromo酢酸、マレイン酸、フマル酸、ホルムアルデヒドとシアン化水素又はシアン化ソーダの組み合わせ、及び、グリオキサールと水素化剤の組み合わせから選ばれるものであることを特徴とする請求項 7～9 のいずれか 1 項記載の製造法。

【請求項 11】 炭素求電子剤が、長鎖脂肪族カルボン酸ハライド、長鎖脂肪族カルボン酸無水物、長鎖カルボン酸から選ばれるものであることを特徴とする請求項 7 又は 8 記載の製造法。

【請求項 12】 炭素求電子剤が、長鎖アルキルカルボン酸ハライドであることを特徴とする請求項 7、8 および 11 のいずれか 1 項記載の製造法

【請求項 13】 炭素求電子剤が、アルコキシカルボン酸ハライド又はアリールオキシカルボン酸ハライドであることを特徴とする請求項 7 又は 8 記載の製造法。

【請求項 14】 炭素求電子剤がハロギ酸エステルであることを特徴とする請求項 7、8 及び 13 のいずれか 1 項記載の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、食品添加物、各種キレート剤、各種ポリマー等の各種機能化学品及び医薬中間体の原料として有用な L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法及びそれらを利用した N-置換アスパラギン酸の製造法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】アスパラギン酸の窒素原子を水性媒体中で各種炭素求電子剤と反応させることにより、種々の機能化学品や医薬中間体などの有用誘導体が製造されることは知られている。例えばアスパラギン酸の N-アルキル化により得られるアミノポリカルボン酸は、特に生分解性のキレート剤として注目されている。またアスパラギン酸の N-アシル化により得られる長鎖脂肪酸アミドは人体に対するマイルド性の高い界面活性剤として用

いられている。またアスパラギン酸のN-アルコキシカルボニル化により得られるN-保護アスパラギン酸は種々のペプチド合成に有用である。上記誘導体化に当たっては、原料アスパラギン酸をアスパラギン酸ナトリウム塩等の塩にした後にアルキル化剤、アシル化剤またはアルコキシカルボニル化剤などの炭素求電子剤を作用させることは公知である。また、このとき、アンモニアが存在すると、アンモニアが求電子剤として、共存する炭素求核剤と反応するなどの副反応を併発し、反応収率が低くなるなどの難点があることも知られている。

【0003】このため、フマル酸からL-アスパラギン酸を製造する場合、アンモニア存在下で実施されるので、通常、反応生成物として得られるL-アスパラギン酸アンモニウム塩の水溶液に無機酸などを添加し、L-アスパラギン酸を晶析、単離したものが上記誘導体製造の原料として用いられている。しかしながら、現在の製造法では、L-アスパラギン酸を晶析、単離する工程が必ず必要となり、効率的でない。また、晶析操作を行うと、副生成物として大量の無機酸のアンモニウム塩が生成すること、純度の高いL-アスパラギン酸を得るには、晶析時のL-アスパラギン酸のロスが大きいこと等工業的観点から問題がある。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、食品添加物、各種キレート剤、界面活性剤、医農薬中間体、各種ポリマー等の原料として工業的に有用なL-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液を安価に製造し、かつ、N-置換アスパラギン酸をも効率よく製造する方法を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決するために、L-アスパラギン酸の生成反応で得たL-アスパラギン酸アンモニウム塩から、晶析操作を経ることなく、直接、誘導体製造反応に用いることのできるL-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液を得るべく検討した結果、L-アスパラギン酸生成で得たL-アスパラギン酸アンモニウム塩水溶液と水酸化アルカリ化合物とを混合した後、次いでこれを蒸留することにより、アンモニア含量が低く誘導体化反応に使用可能なL-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液を製造できることを見出し、かつ、そのまま炭素求電子剤を作用させることにより簡便にN-置換アスパラギン酸を得られることを見出し、本発明を完成した。

【0006】すなわち、本発明の要旨は、フマル酸を水性媒体中でアンモニア存在下、アスパルターゼあるいはアスパルターゼを含有する微生物を用いて酵素反応して得られたL-アスパラギン酸アンモニウム水溶液と、水酸化アルカリ化合物とを混合し、次いで脱アンモニア蒸留することを特徴とするL-アスパラギン酸のアルカリ

金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液の製造法及び該化合物を更に炭素求電子剤を作用させることを特徴とするN-置換アスパラギン酸の製造法に存する。

【0007】

【発明の実施の形態】以下、本発明を更に詳細に説明する。本発明の方法は、フマル酸とアンモニアから酵素反応により得られるL-アスパラギン酸アンモニウム水溶液と水酸化アルカリ化合物とを混合し、次いでアンモニア蒸留する事を特徴とする。本発明に用いられるL-アスパラギン酸アンモニウム水溶液は、フマル酸アンモニウム水溶液をアスパルターゼあるいはアスパルターゼを産生する微生物で酵素処理することにより製造する。

【0008】上記製造方法としては、公知であり、それらに準じて行われれば、特に限定するものではない。

アスパルターゼ活性を有する微生物としては、フマル酸とアンモニアからL-アスパラギン酸を生成しうる能力を有する微生物であれば特に制限がなく、例えば、プレビバクテリウム属、エシェリヒア属、シュードモナス属、バチルス属等の微生物が挙げられる。具体的には、プレビバクテリウム・フラバム (*Brevibacterium flavum*) MJ-233 (FERM BP-1497)、同MJ-233-AB-41 (FERM BP-1498)、プレビバクテリウム・アンモニアゲネス ATCC 6872、エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*) ATCC 11303、同 ATCC 27325等を例示することが出来る。

【0009】菌体を用いる場合には、培養した各菌体を、予め、リン酸緩衝液等の緩衝液 (pH 7) 等で洗浄した後そのまま用いることが出来る。洗浄用のリン酸緩衝液の濃度は0.05M~0.2M程度が好適に用いられる。また、必要により、該菌体を超音波破碎等で処理をした菌体破碎物；該破碎物を遠心分離した無細胞抽出液；該無細胞抽出液を硫酸分画法；イオン交換カラム、ゲルろ過カラム等で精製した部分精製酵素；または該菌体や菌体破碎物をアクリルアミドモノマー、アルギン酸等の担体を用いて固定化した固定化物等も用いることもできる。また、菌体を用いる場合、予め菌体を凍結したり、上記緩衝液中にTriton X-100、Tween20等の界面活性剤を0.01~0.2重量%添加した液中で、15~40℃の温度で、10~120分菌体を処理することにより菌体の透過性を高めてから使用する事もできる。

【0010】上記酵素反応におけるpHは、通常、7.5~10が好ましく、反応温度は、酵素反応が効率的に行なわれる温度を選定し、通常、10~80℃、好ましくは20~60℃である。pHを調整するのに用いられるアルカリ剤は、L-アスパラギン酸の原料であるアンモニアが最も好ましいが、アンモニアに対して10重量%以下であれば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等を併用しても問題はない。

【0011】反応溶液中のアンモニアの使用量は、酵素処理が可能であれば特に限定されないが、フマル酸に対するアンモニアのモル比として1.0～3.0の範囲であり、好ましくは、2.0～2.6である。モル比が小さすぎても、大きすぎても酵素処理におけるpHがアスパルターゼの至適pHをはずれ、反応が進行しにくくなる。因みにアスパルターゼの至適pHとされるpH7.5～9.5におけるこのモル比の値は、温度にもよるが、2.1～2.5程度となり2.0より大きくなる。

【0012】酵素反応で得られる反応液はL-アスパラギン酸アンモニウムを主体として含むが、このアンモニウム塩はモノアンモニウム塩とジアンモニウム塩の混合物である。また、この反応液中には未反応のフマル酸アンモニウム及びマレイン酸アンモニウムを含む場合もあるが、この含有量は2g/l以下、好ましくは1g/l以下に制御することが望ましい。この含有量の制御は上記した反応条件を最適化することにより行なうことができる。

【0013】酵素処理で得られるL-アスパラギン酸アンモニウム水溶液の粘度、比重等の物理的性状は、酵素処理条件で決まるもので特に限定されるものではない。反応液中のL-アスパラギン酸アンモニウムの濃度は、50～800g/lの範囲であり、好ましくは、100～500g/lである。濃度が低すぎると、大量の水溶液を扱うことにより、プロセス面で不利な状況となり、高すぎると、酵素反応の進行に支障をきたす。

【0014】酵素反応の反応操作としては、限定されるものではないが、バッチ操作に比べて連続操作がより好ましい。通常、反応方式として菌体を固定化した充填層に原料水溶液を通液する方法、又は、菌体自体又は固定化した菌体を懸濁した反応器中に原料水溶液を供給する一方、反応液を抜き出し、これを分離膜や遠心分離機を用いて菌体を分離し反応器に戻す方法等が挙げられる。

【0015】酵素反応終了後の反応液は、常法により菌体を分離した後、次工程に送られる。通常、分離膜や遠心分離機を用いて菌体を分離する。本発明に用いられる水酸化アルカリ化合物としては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム等のアルカリ金属の水酸化物、あるいは、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム等のアルカリ土類金属の水酸化物等が挙げられ、このうち経済性の観点から、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムが好ましい。

【0016】水酸化アルカリ化合物の添加量は、通常、酵素反応液に含まれるL-アスパラギン酸アンモニウムに対しモル比として0.5～4.0である。好ましくは、1より大きく3以下である。この量が少なすぎると、次工程で回収されるアンモニア量が十分でなく経済的な製法とならないばかりか、最終的に得られるL-アスパラギン酸アルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液中に残るアンモニア含量が高く、キレート剤等の原

料としては適当でなくなる。この量が多すぎると経済的に好ましくなく、また混合液のアルカリ性も高くなり操作性が悪化する。

【0017】脱アンモニア蒸留後の水性媒体のpHは、上記水酸化アルカリ化合物の添加量により決定されるが、好ましくは、pH7～11である。添加する温度はとくに限定されるものではないが、酵素反応後の操作として不都合なく実施できればよい。添加方法は、特に限定されるものではなく、水酸化アルカリ化合物も粉体でも水溶液あるいはスラリーとして添加し易い形態として添加しても構わない。添加の操作方法は、連続操作でもバッチ操作でも構わない。攪拌のできる混合槽に添加してもよいし、ラインミキシング等の簡便な混合装置でも構わない。

【0018】本発明の方法においては、前工程で得た反応液を蒸留又はストリップングしてアンモニアを除去することにより、実質的にL-アスパラギン酸アルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液とすることができる。蒸留操作又はストリップング操作（以下、アンモニア除去操作ということがある）は、常圧下でも減圧下でもよく、塔底液の温度は、30～100℃の範囲で、好ましくは、40～80℃で行なうことができる。低温下でアンモニア除去操作を行なうには、減圧度を高めなくてはならず操作上の制約が大きくなる。一方、高温下では、液組成の熱劣化を招くので好ましくない。

【0019】この場合の供給液の温度は、特に限定されないが、それぞれの工程の反応又は操作温度を考慮して5～80℃、好ましくは、10～50℃が採用できる。操作温度より低温で供給しても何ら問題ない。また、滞留時間は、塔底温度によるが、通常、0.01～1時間、好ましくは、0.02～0.8時間の範囲より選ばれる。アンモニア蒸留操作は、回分式でも連続式でも特に制限されるものではないが、短時間で処理可能な連続式の方が好ましい。

【0020】本発明に方法におけるアンモニア除去装置としては、一般的な化学工業で用いられるフラッシュ蒸留塔、又は、適当な段数を有する蒸留塔が挙げられる。また、可能な限り熱履歴を避けるため、薄膜蒸発器のような短時間の接触でアンモニアを除去してもよい。アンモニア除去操作で蒸気として分離されるのは、アンモニアおよび水のみであり、冷却管等を用いてこの蒸気を液として回収すれば、アンモニア水が得られる。この得られるアンモニア水の濃度は、アンモニア除去操作の温度、圧力および蒸気回収温度等に影響される。

【0021】本工程のアンモニア除去操作で蒸気として分離し、冷却管等で回収されたアンモニア水は、アスパラギン酸アンモニウム塩の製造工程に必要な応じて再使用することができる。塔底に得られる残液中のアンモニア含量は、アンモニア除去操作の温度、圧力および蒸気回収温度等に影響されるが、通常、L-アスパラギン酸

アルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩のL-アスパラギン酸換算重量に対して1000ppm以下、好ましくは500ppm以下、更に好ましくは300ppm以下にすべきである。

【0022】上記操作後の水性媒体中のL-アスパラギン酸アルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩の濃度は、L-アスパラギン酸換算の濃度として10重量%以上、好ましくは15重量%以上である。この濃度があまり低いと大量の液を扱うことによりプロセス面で不利な状況となり、逆にあまり高いと回収濃度が高くなり粘性も大

きくなりすぎ操作上好ましくない。

【0023】しかし、更に濃縮度を高めて、例えばスプレードライヤー等の装置によりL-アスパラギン酸アルカリ金属塩を固体として単離することも可能である。本発明では、上記で得られるL-アスパラギン酸塩水溶液に炭素求電子剤を添加することにより、所望のN-置換アスパラギン酸を得ることができる。本発明において炭素求電子剤とはアスパラギン酸のアミノ基と反応しうる電子不足炭素を有するものを示し、具体的にはアルキル化剤、アシル化剤またはアルコキシカルボニル化剤が例

示される。

【0024】本発明において、N-置換アスパラギン酸とは、アスパラギン酸のアミノ基上にアルキル基、アシル基またはアルコキシカルボニル基等が導入されているものを示し、これら置換基の種類は、用いる炭素求電子剤の種類により異なる。ここで、N-置換アスパラギン酸をキレート剤として用いる場合には、置換基上にカルボキシル基を有しているものが好ましい。またN-置換アスパラギン酸を界面活性剤として用いる場合には、置換基として長鎖アシル基を有しているものが好ましい。

【0025】アルキル化剤としては、アスパラギン酸のアミノ基と反応しうる基を有するものであれば、特に限定されないが、N-アルキル化アスパラギン酸をキレート剤として用いる場合には、1) 分子内に2個以上のハロゲン原子を有する炭化水素化合物、2) 分子内に1個以上のハロゲン原子と1個以上のキレート性官能基もしくは化学変換により容易にキレート基に変換できる官能基を有する化合物、3) 分子内に1個以上のエポキシ基を有する化合物、4) 分子内にアミノ基が付加反応することのできる1個以上の不飽和基と1個以上のキレート性官能基もしくは化学変換により容易にキレート性官能基に変換できる官能基を含む化合物、5) カルボニル化合物とシアン化合物の組み合わせ、6) カルボニル化合物と水素化剤の組み合わせ、7) アルデヒド類とフェノール化合物の組み合わせが好ましい。

【0026】2個以上のハロゲン原子を有する炭化水素化合物としては、ハロゲン原子としてフッ素、塩素、臭素、ヨウ素、好ましくは塩素および臭素を含有する、炭素数1から6のジハロアルカンが挙げられ、具体的には1, 2-ジクロロエタン、1, 2-ジブromoエタン、

1, 3-ジクロロプロパン、1, 3-ジブromoプロパン、1, 2-ジクロロシクロヘキサン、1, 2-ジブromoシクロヘキサン、1-ブromo-2-クロロエタン、 α - α' -ジブromo-o-キシレンなどが例示でき、特に好ましくは1, 2-ジクロロエタン、1, 2-ジブromoエタンが例示できる。

【0027】分子内に1個以上のハロゲン原子と1個以上のキレート性官能基もしくは化学変換により容易にキレート基に変換できる官能基を含む化合物において、キレート性官能基とはカルボキシル基；ヒドロキシル基；メルカプト基；アミノ基；ピリジル基、ピラジル基、イミダゾリル基、チアゾリル基、キノリル基、モルホリル基等の含窒素複素環基；エーテル基；チオエーテル基；ホスホノ基；スルホ基などが例示でき、また化学変換により容易にキレート基に変換できる官能基としてはニトリル基；アミド基；アルコキシカルボニル基（エステル）；ホルミル基（アルデヒド）；アセタール基；スルホニルアミド基などが例示できる。具体的にはクロロ酢酸、ブromo酢酸、クロロコハク酸、ブromoコハク酸、1-クロロプロピオン酸、2-クロロプロピオン酸、1-ブromoプロピオン酸、2-ブromoプロピオン酸、クロロメチル安息香酸、クロロエタノール、ブromoエタノール、1, 3-ジクロロ-2-ヒドロキシプロパン、2-クロロピリジン、2-クロロメチルピリジン、4, 5-ビス（ブromoメチル）-1, 3-イミダゾール、2-クロロエタンスルホン酸、3-クロロ-2-ヒドロキシプロパンスルホン酸、クロロプロピオニトリル、クロロプロピオン酸アルキルエステルなどが例示でき、特に好ましくはクロロ酢酸、1, 3-ジクロロ-2-ヒドロキシプロパンが例示できる。ニトリル基などのキレート基前駆体をキレート基に変換する場合は通常の水加水分解やアルカリ加水分解を用いることが出来、アルカリ加水分解の場合には添加されたアルカリによりアルキル化工程と同時に実施することも可能である。

【0028】分子内に1個以上のエポキシ基を有するものとしては、具体的にはエチレンオキシド、プロピレンオキシド、スチレンオキシド、エピクロロヒドリン、1, 2-エポキシプロピオン酸、2, 3-エポキシコハク酸などの脂肪族及び芳香族のエポキシ化合物が例示できる。分子内にアミノ基が付加反応することのできる1個以上の不飽和基と1個以上のキレート性官能基もしくは化学変換により容易にキレート性官能基に変換できる官能基を含む化合物において、キレート性官能基もしくは化学変換により容易にキレート性官能基に変換できる官能基とは、前記と同様である。具体的にはアクリル酸、マレイン酸、マレイン酸モノメチルエステル、フマル酸、メタクリル酸、アクリルアミド、メタクリルアミド、アクロレイン、メタクロレイン、ビニルスルホン酸、アクリロニトリルなどが例示でき、特に好ましくはマレイン酸およびマレイン酸モノメチルエステルが例示

できる。

【0029】アミノ化合物とカルボニル化合物とシアン化合物との反応によりアミノカルボン酸が製造できることはストレッカー反応として知られている。カルボニル化合物としては、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、クロロアセトアルデヒド等のアルデヒド類；クロロアセトアルデヒドジメチルアセタール等のアセタール類；アセトン等のケトン類である。シアン化合物としてはシアン化水素、シアン化ナトリウム、シアン化カリウムなどが例示できる。シアン化合物とアルデヒド類の反

応中間体であるヒドロキシニトリル類も同様に使用することができ、具体的にはグリコロニトリルが例示できる。

【0030】アミノ化合物とカルボニル化合物を水素化剤の存在下に反応させることは還元的アルキル化として知られている。アルデヒド類として具体的にはグリオキサール、グリオキシル酸、クロロアセトアルデヒド、クロロアセトアルデヒドジメチルアセタールなどが例示でき、ケトン類としてはアセトン、アセトフェノン等が例示できる。このうち、キレート剤としては、アルデヒド類を用いることが好ましい。水素化剤として水素を反応させる場合は通常は均一または不均一の触媒を用いる。均一触媒としてはロジウム、ルテニウム、イリジウムなどの有機金属錯体が例示でき、不均一触媒としては白金／カーボン触媒やラネーニッケル触媒を例示できる。水素化剤としてはナトリウムボロハイドライド、ボランT H F 錯体、リチウムアルミニウムハイドライドのようなハイドライド類が例示できる。

【0031】アミノ化合物とアルデヒド類をフェノール化合物に反応させる核アルキル化反応はマンニッヒ反応として知られている。アルデヒドとして具体的にはホルムアルデヒド、アセトアルデヒドなどが例示でき、フェノール類としてはフェノール、サリチル酸、ヒドロキシベンゼンスルホン酸などが例示できる。アルキル化反応の条件については、各々のアルキル化剤について従来から知られている反応条件で実施することができる。反応濃度としては、L-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩のL-アスパラギン酸換算の濃度として1～50重量%、好ましくは5～20重量%が例示できる。この濃度があまり低いと大量の水溶液を扱うことによりプロセス面で不利な状況となり、逆にあまり高いと粘性が大きくなりすぎ操作上好ましくない。反応温度としては、-20℃～200℃、好ましくは0℃～150℃が例示できる。温度が高すぎると原料アスパラギン酸塩やアルキル化剤の熱劣化が起き、低すぎるとアスパラギン酸塩が析出したり、反応速度の低下が起き、操作上好ましくない。アルキル化剤の量比は特に制限はないが、反応液中のアスパラギン酸塩に対してモル比で0.1～1.0、好ましくは0.2～2である。

【0032】アルキル化剤の一部として水素を使う場合

には加圧下で実施することもできる。反応の進行に伴い酸が発生する場合には塩基を反応前もしくは反応に応じて添加することも有効である。アルキル化剤の種類によっては良好な収率を得るためにpHを特定範囲に維持することが有効である例も知られており、このために酸や塩基を反応の進行に応じて添加することも有効である。

【0033】また反応を促進するために従来から知られている種々の触媒を添加することも有効である。触媒としては、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属や亜鉛等の遷移金属の水酸化物やハロゲン化物を用いることができる。アルキル化剤としてクロロ化合物を用いる場合には、カリウム、ナトリウム等のアルカリ金属や4級アンモニウムの臭化物を触媒量添加することも有効である。

【0034】アシル化剤としては、アスパラギン酸のアミノ基と反応しうる基を有するものであれば、特に限定されない。N-アシル化アスパラギン酸を界面活性剤として用いる場合には、長鎖脂肪族カルボン酸、長鎖脂肪族カルボン酸無水物及び長鎖脂肪族カルボン酸ハライドが例示できる。長鎖脂肪族カルボン酸としては、炭素数6から20の飽和または不飽和の脂肪酸が上げられ、具体的にはオレイン酸、ラウロイル酸、ミリストイル酸、パルミチン酸、ステアリン酸等の脂肪酸が挙げられる。これらは、それぞれ単独で用いられてもいいし、それらの混合物を用いてもよい。

【0035】また、長鎖脂肪族カルボン酸を用いる場合には、触媒として、DCC（ジシクロヘキシルカルボジイミド）等の縮合剤を用いる必要がある。長鎖脂肪族カルボン酸無水物及び長鎖脂肪族カルボン酸ハライドとしては、上記長鎖カルボン酸の無水物及びハライドが用いられる。上記カルボン酸無水物としては、同一カルボン酸2分子から得られる対称体であっても異なるカルボン酸2分子から得られる非対称体であってもよい。

【0036】上記アシル化剤のうち、工業的な入手容易さの観点から長鎖脂肪族カルボン酸ハライドが好ましい。上記、カルボン酸ハライドとしては、具体的にはオレイルクロライド、ラウロイルクロライド、ミリストイルクロライド、パルミトイルクロライド、ステアロイルクロライド等の単一組成の脂肪酸クロライド、ヤシ油脂肪酸クロライド、牛脂脂肪酸クロライド等の混合脂肪酸クロライドなどが例示でき、特に好ましくはラウロイルクロライド、ミリストイルクロライドが例示できる。

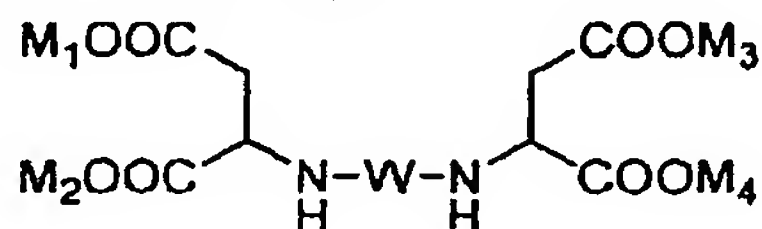
【0037】アシル化反応の条件については、各々のアシル化剤について従来から知られている反応条件で実施することができる。アシル化剤がカルボン酸ハライドやカルボン酸無水物である場合はショッテン・バウマン反応として知られており、公知例としては特開平5-4952号公報が例示できる。具体的には本発明により得られるアスパラギン酸塩溶液にアセトン等の親水性溶媒を加え、攪拌下に長鎖カルボン酸ハライドとアルカリ化

物を同時に滴下して pH を 10.5 ~ 14 に保ち、-10 ~ 30℃ の温度で反応させることにより、長鎖アシルアスパラギン酸ジ塩を得ることができる。同時滴下するアルカリ化合物としては水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、炭酸ナトリウム等のアルカリ金属又はアルカリ土類金属の水酸化物あるいは炭酸塩が例示できる。反応濃度としては、L-アスパラギン酸換算の濃度として 1 ~ 90%、好ましくは 20 ~ 50% が例示できる。アシル化剤の量比は特に制限はないが、反応液中のアスパラギン酸塩に対し 0.6 から 1.1 モル

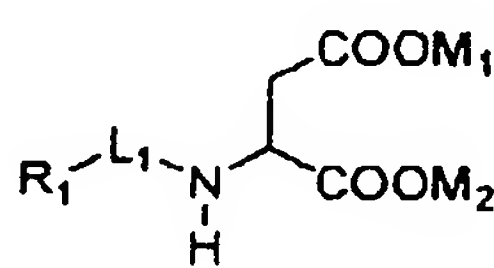
【0038】アルコキシカルボニル化剤としてはアスパラギン酸の保護基としてアミノ基と反応しうる基を有するものであればよく、例えば、アルコキシカルボニル化反応に関与しない置換基で置換されていてもよい、アルコキシ又はアリアルコキシカルボン酸ハライドが挙げられる。このうち、好ましくはクロロギ酸エステルが例示でき、特に好ましくはベンジルオキシカルボニルクロライド、t-ブトキシカルボニルクロライド、9-フルオレニル

【0039】アルコキシカルボニル化反応の条件については、各々のアルコキシカルボニル化剤について従来から知られている反応条件で実施することができる。アシル化剤がクロロギ酸エステルである場合はショットテン・バウマン反応として知られており、公知例としては第 4 版実験化学講座第 22 巻 230 頁（丸善、1992 年）が例示できる。具体的条件はアシル化の場合と同様である。

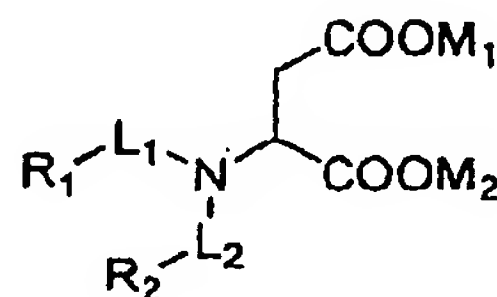
【0040】これらの誘導体化に要する反応時間は従来の誘導体化反応の反応時間と変わらず、0.1 ~ 100 時間、通常は 1 ~ 24 時間で終了する。本発明により得られるアスパラギン酸誘導体は、通常はアスパラギン酸



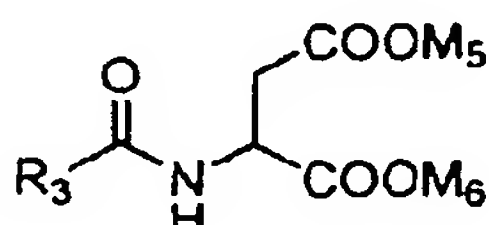
(I)



(II)



(III)



(IV)

のカルボン酸部分のアルカリまたはアルカリ土類金属塩の水溶液として得られる。生成物の単離については目的に応じ、生成物を塩として得ることや遊離の形で得る等、従来から知られている単離条件で実施することができる。

【0041】上記誘導体化反応で得られる N-置換 L-アスパラギン酸アルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩を単離する方法として、具体的には反応液をそのまま冷却し生成物の塩を結晶として得る方法、アルコールやアセトンなどの水混合性の貧溶媒を添加する方法、反応液を濃縮乾固やスプレードライ等の操作に供する方法などが例示できる。また、生成物を遷移金属等の、アルカリ金属またはアルカリ土類金属以外の塩として得る場合には、反応終了後に所望の金属塩を加えて生成物との塩交換を行う方法や目的金属イオンの酸化還元反応を行う方法により得ることができる。この方法により得られる有用なアミノポリカルボン酸金属錯体としては写真薬において用いられている鉄錯体を例示することができる。

【0042】遊離の形で得る方法としては酸を添加し反応液の pH を生成物の溶解度極小点近くにするることにより、生成物を沈殿単離する方法が知られている。一般にアスパラギン酸の窒素原子に置換基を導入することにより、溶解度の極小点（両性化合物の場合は等電点）は変化するので、この違いを利用して生成物と原料を分離することができる。加える酸としては塩酸、硫酸などの鉱酸類、フマル酸、マレイン酸などの有機酸類などが例示できる。原料のアスパラギン酸が回収される場合には、これを再利用することも可能である。本発明により製造される N-置換アスパラギン酸としては、下記一般式 (I)、(II)、(III) および (IV) で表される化合物が挙げられる。

【0043】

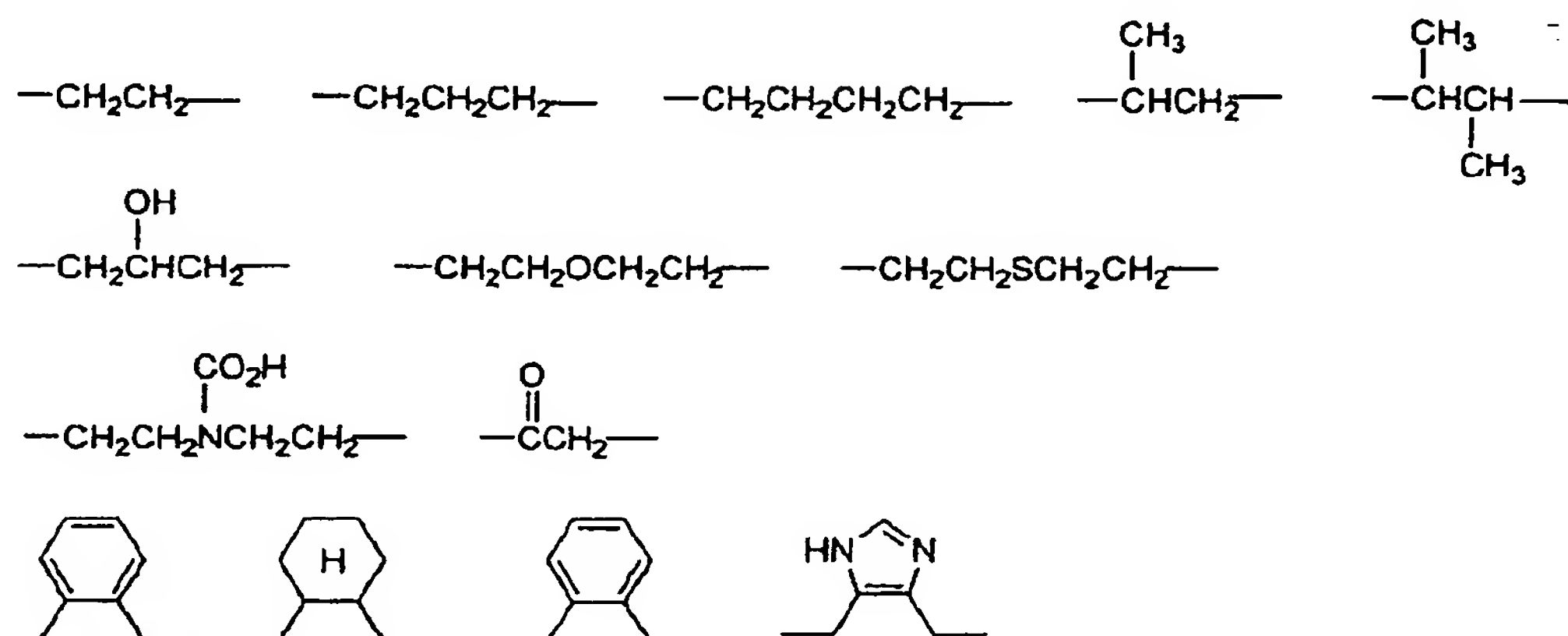
【化 1】

【0044】上記一般式 (I) 中、W1 はアルキレン基又は単結合を表す。W1 で表されるアルキレン基として好ましくは、炭素数 1 ～ 8 の直鎖又は分岐のアルキレン基 (例えばメチレン基、エチレン基、プロピレン基)、炭素数 5 ～ 10 のシクロアルキレン基 (例えば 1, 2-シクロヘキシレン基) である。W2 はアルキレン基又は -CO- を表す。W2 で表されるアルキレン基は W1 で表されるアルキレン基と同義である。W1 及び W2 で表されるアルキレン基は同一又は互いに異なってもよく、又は置換基を有していてもよい。置換基としては、好ましくはアルキル基、ヒドロキシル基又はカルボキシル基である。W1 及び W2 としてより好ましくは炭素数 1 ～ 3 のアルキレン基であり、メチレン基又はエチレン基が特に好ましい。Z は単結合、-O-、-S-

-CO-、又は -N(Rw)- を表す。Rw は水素原子又は置換されてもよいアルキル基を表す。置換基として好ましくはカルボキシル基；ヒドロキシル基；メルカプト基；アミノ基；ピリジル基、ピラジル基、イミダゾリル基、チアゾリル基、キノリル基、モルホリル基等の含窒素複素環基；エーテル基；チオエーテル基；ホスホノ基；スルホ基などが例示でき、特に好ましくはカルボキシル基、ホスホノ基、スルホ基、ヒドロキシル基又はアミノ基である。Z として好ましくは単結合である。n として好ましくは 1 又は 2 であり、より好ましくは 1 である。置換基 - (W1-Z) 。-W2 の具体例を以下に示す。

【0045】

【化 2】

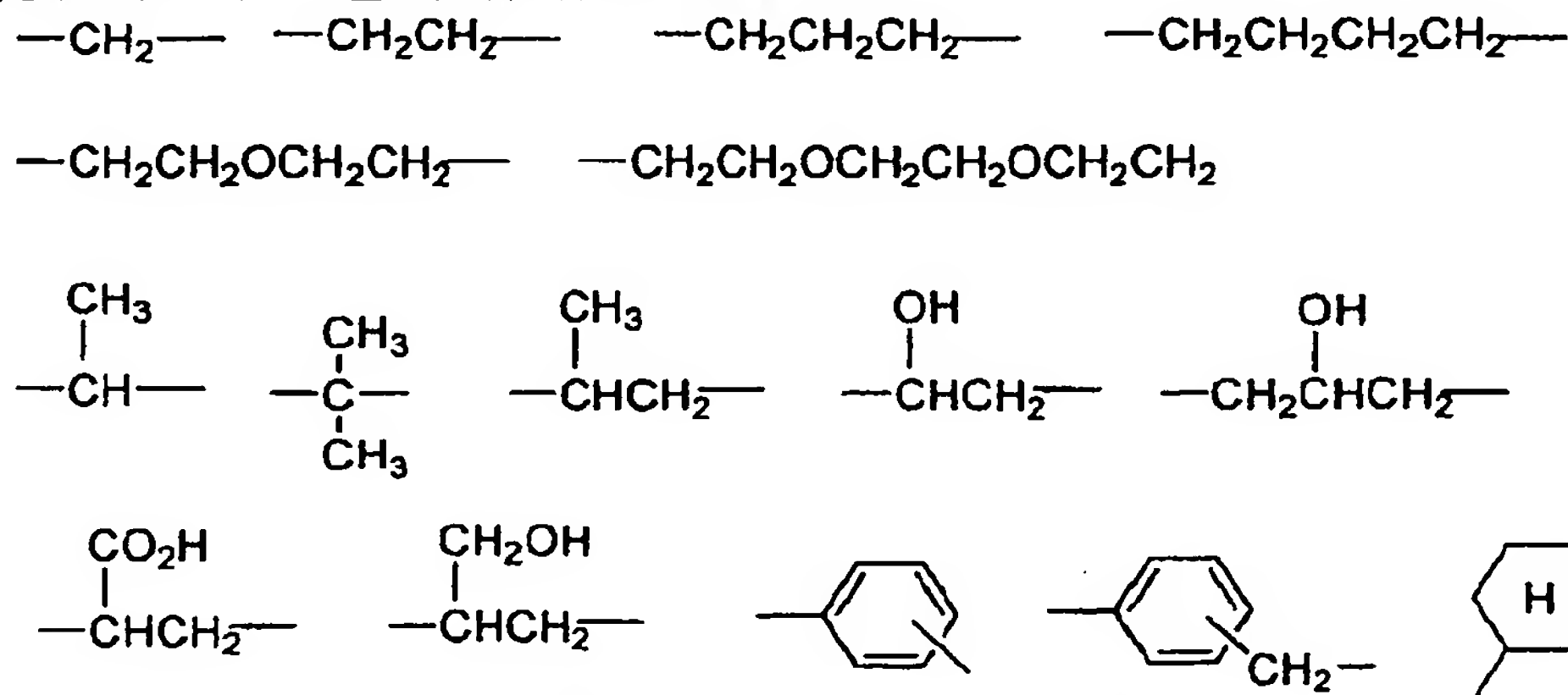


【0046】上記一般式 (II) 及び (III) 中、R₁ 及び R₂ としてはそれぞれカルボキシル基；ヒドロキシル基；メルカプト基；アミノ基；ピリジル基、ピラジル基、イミダゾリル基、チアゾリル基、キノリル基、モルホリル基等の含窒素複素環基；エーテル基；チオエーテル基；ホスホノ基；スルホ基などが例示でき、好ましくはカルボキシル基、ホスホノ基、スルホ基、ヒドロキシル基であり、特に好ましいのはカルボキシル基である。L₁ および L₂ で表されるアルキレン基は直鎖、分岐又は環

状でもよく、好ましくは直鎖のアルキレン基である。アルキレン基としては炭素数 1 ～ 6 のものが好ましい。アルキレン基は置換されていてもよく、置換基としては R₁ として挙げたものが適用できる。L₁、L₂ の好ましい具体例としては以下に示されるものが挙げられる。特に好ましくはメチレン基又はエチレン基である。

【0047】

【化 3】



【0048】上記一般式 (IV) 中、R₃ は水素原子、炭素数 6 ～ 20 のアルキル基または炭素数 6 ～ 20 のアルコキシ基を表す。一般式 (I) ～ (IV) において、M1

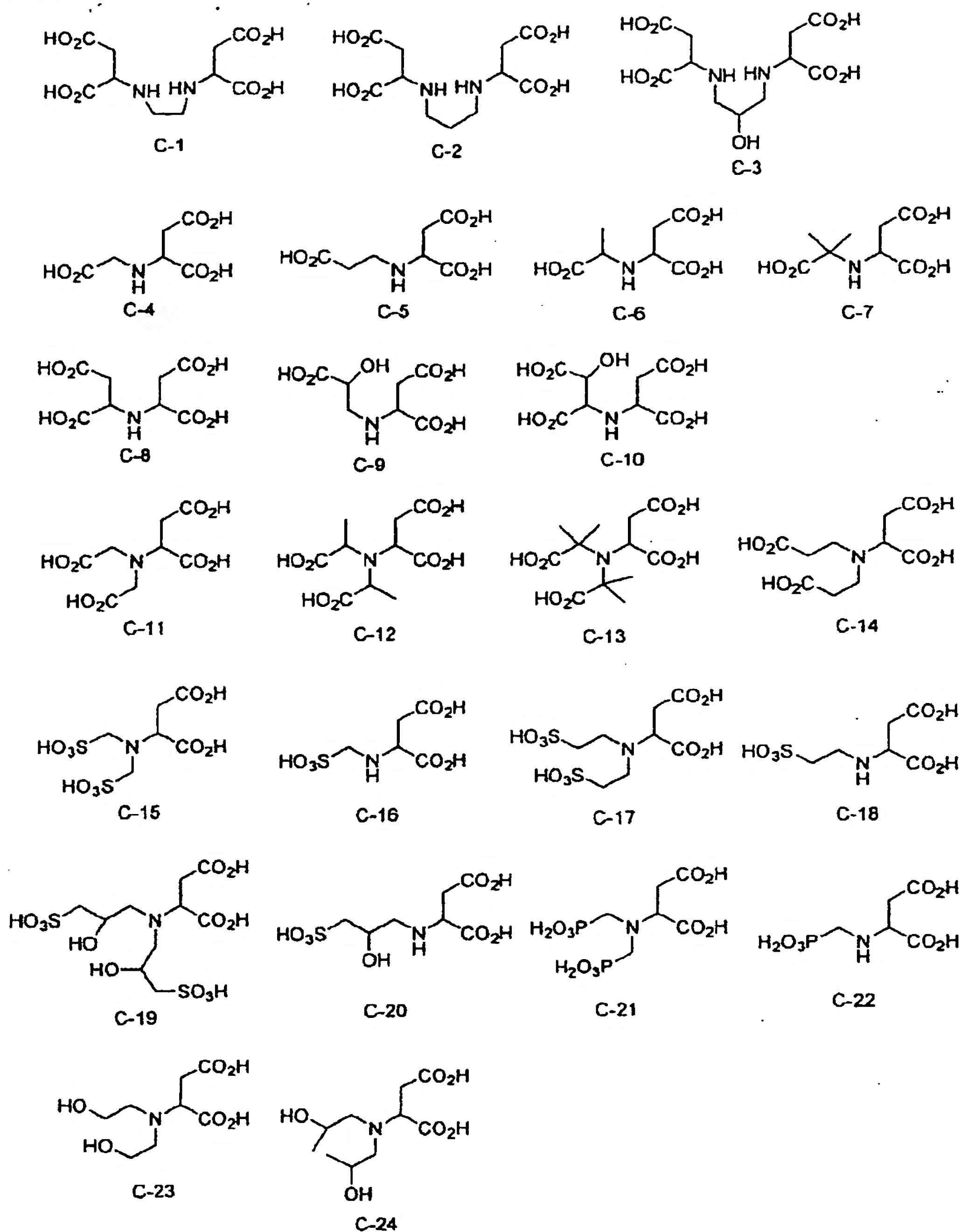
～M6 は水素原子または金属イオンである。金属イオンとして具体的にはナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属類、カルシウム、マグネシウムなどのアルカリ土類

金属類、鉄(III)、銅(II)などの遷移金属などを例示で
 きる
 本発明により製造される化合物の具体的な構造例を以下

に示す。

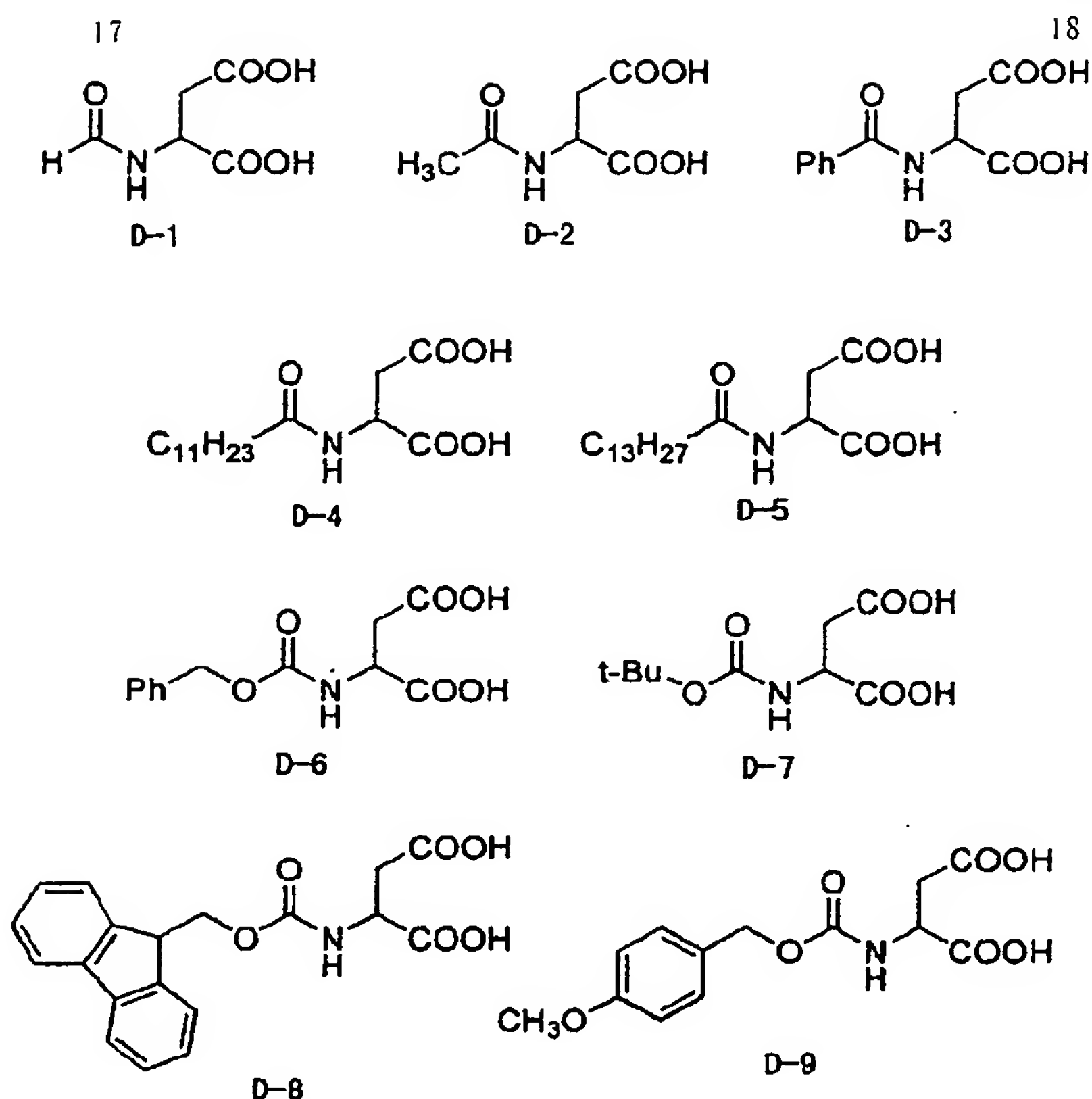
【0049】

【化4】



【0050】

【化5】



【0051】尚、アスパラギン酸アンモニウム製造の原料である、フマル酸アンモニウム水溶液は、1) マレイン酸を化学異性化し、フマル酸とした後、水性媒体中でアンモニアと混合しても得られるし、2) マレイン酸とアンモニアを水性媒体中で混合したものにマレイン酸イソメラーゼ又は該酵素活性を有する微生物を作用させることにより異性化して得ることもできる。異性化反応は、化学反応でも酵素反応でも特に限定するものではないが、マレイン酸等が熱劣化を受けやすく、不純物の蓄積が起こりやすいことなどから、よりマイルドな反応条件を設定しうる酵素反応の方が好ましい。

【0052】化学反応で異性化する方法としては熱異性化法、適当な触媒を使用添加する異性化法の2つがあるが副生物のできにくさを考慮するとより触媒を用いる異性化反応の方が好ましい。使用される触媒としては、通常用いられるものであればよく、例えば、チオ尿素類(特開昭48-30617号公報)、臭素供給化合物(例えば臭化アンモニウム)と酸化剤(例えば過硫酸アンモニウム)(特公昭41-425号公報)、臭素酸塩類又は臭素酸塩類と過棚酸塩(US291455号公報)等が挙げられる。触媒の添加量としては、公知法と同様に水溶液中に存在するマレイン酸に対して0.001重量%~10重量%、好ましくは、0.01重量%~5重量%である。反応温度としては、50~200℃、好ましくは、70~180℃である。

【0053】異性化反応を化学反応で行うと、フマル酸の溶解度が小さいために、フマル酸が析出する反応晶析の形態となる。必要により得られるスラリーを固液分離

する工程、さらに得られる結晶を水でリンスする工程を加えても良い。異性化反応を酵素処理により行うには、マレイン酸イソメラーゼあるいは、マレイン酸イソメラーゼを産生する微生物を用いる。マレイン酸イソメラーゼ活性を有する微生物としては、マレイン酸を異性化してフマル酸を生成しうる能力を有する微生物であれば特に制限がなく、例えば、アルカリゲネス属、シュードモナス属、キサントモナス属等の微生物が挙げられる。具体的には、アルカリゲネス・フェカリス(*Alcaligenes faecalis*) IFO12669、同 IFO13111、同 IAM1473、アルカリゲネス・ユウトロフス(*Alcaligenes eutrophus*)、シュードモナス・フルオレッセンス(*Pseudomonas fluorescens*) ATCC23728、キサントモナス・マルトモナス(*Xanthomonas marutomonasu*) ATCC13270等を例示することが出来る。

【0054】このときの菌体調製法は、上記に記載の方法を用いることができる。また、酵素による異性化反応時のpHとしては、通常、7.5~10が好ましく、反応温度は、酵素反応が効率的に行なわれる温度を選定し、通常、10~100℃、好ましくは20~80℃である。また、異性化反応を酵素反応で行う場合には、アンモニアの化学量論、pH、反応温度等を調整することにより、アスパルターゼを同一反応器内に共存させて、マレイン酸アンモニウムから、一工程にて直接、L-アスパラギン酸アンモニウムを得ることもできる。この時、マレイン酸イソメラーゼを用いる酵素反応では、ア

30

40

50

ンモニアにより反応の阻害が見られないが、アスパルターゼと同一反応槽で酵素反応する場合には、マレイン酸に対するアンモニアのモル比として1.0~3.0の範囲であり、好ましくは、2.0~2.6である。

【0055】

【実施例】以下に実施例を挙げて、本発明を具体的に説明する。尚、L-アスパラギン酸（以下ASPと略記することがある）、マレイン酸（以下MAと略記することがある）およびフマル酸（以下FAと略記することがある）の分析は高速液体クロマトグラフィーにより、ASP結晶中のアンモニア（以下NH₃と略記することがある）含量の分析はイオンクロマトグラフィーにより定量した。

【0056】【参考例】酵素の調整

(1) マレイン酸イソメラーゼ活性を有する微生物の培養

肉エキス：10g、ペプトン：10g、NaCl：5g、マレイン酸10g及び蒸留水：1000ml（苛性ソーダでpH7.0に調整）の培地100mlを500ml容の三角フラスコに分注し、120℃、20分間滅菌処理したものに、アルカリゲネス フェカリス IF012669菌株を植菌し、30℃にて24時間振とう培養した。

【0057】また、上記と同様の培地1000mlを3L容のジャーファーマンターに入れ、120℃、20分間滅菌処理したものに、上記振とう培養液30mlを接種し、これを30℃にて24時間培養した。得られた培養液を遠心分離（8000rpm、15分、4℃）して集菌した菌体を、0.1Mリン酸緩衝液（pH7.0）で1回洗浄し、以下の反応に供試した。

【0058】(2) アスパルターゼ活性を有する微生物の培養

尿素：4g、(NH₄)₂SO₄：14g、KH₂PO₄：0.5g、K₂HPO₄：0.5g、MgSO₄・7H₂O：0.5g、FeSO₄・7H₂O：20mg、MnSO₄・nH₂O：20mg、D-ビオチン：200μg、塩酸チアミン：100μg、酵母エキス1g、カザミノ酸1g及び蒸留水：1000ml（pH6.6）の培地100mlを500ml容の三角フラスコに分注し、120℃、15分間滅菌処理したものに滅菌済み50%グルコース水溶液4mlを加え、プレバクテリウムフラバム AB-41菌株（FERM BP-1498）を植菌し、33℃にて24時間振とう培養した。

【0059】また、上記と同様の培地1000mlを2L容のジャーファーマンターに入れ、120℃、20分間滅菌処理したものに、上記振とう培養液20mlと滅菌済み50%グルコース水溶液200mlを加え、これを33℃にて24時間培養した。得られた培養液を遠心分離（8000rpm、15分、4℃）して集菌した。本菌体のリンゴ酸副生活性を以下の方法で除いた。すな

わち、アスパラギン酸：100g、アンモニア：180ml、塩化カルシウム：2.2g、Tween20：0.8g（水で全量1Lとする）よりなる組成液に集菌体を懸濁し、45℃、3時間振とうし、遠心分離（8000rpm、15分、4℃）して菌体を回収した。

【0060】【実施例1】

(A1) 反応工程

上記参考例(2)により得たアスパルターゼ活性を有するプレバクテリウム・フラバム MJ-233-AB-41（FERM BP-1498）を含む液の限外ろ過膜（旭化成社製-ACV-3050）による濃縮菌体液10g（湿菌体約50重量%）を、反応液（フマル酸150gおよび、25%アンモニア水220mlに水を加えて全量を1000mlとした水溶液、pH9）に添加して、45℃で24時間反応させた。反応終了後、限外ろ過膜により菌体を除去し、得られたろ液を分析したところASPが170g/l（理論収量の98%以上）、FA1g/l、アンモニア28g/l（NH₃/ASPモル比1.3、pH9）であった。

【0061】(B1) 水酸化アルカリ剤の添加

(A1)で得られた酵素反応液1Lに、顆粒状の水酸化ナトリウムを60g（ASPに対して1.17倍モル）加えて、これが溶解するまで静かに攪拌した。

【0062】(C1) アンモニア蒸留工程

500mlのガラス製フラスコを塔底部としたガラス製蒸留塔（段数=10段）に、(B1)で得られた酵素反応液を、600ml/時で供給し、以下の条件で蒸留した。塔底温度80℃、塔頂温度15℃、塔頂圧力380mmHgの条件下、環流比5、塔底の滞留時間0.5時間にて蒸留操作を行った。その結果、塔底からの抜き出し液は、ASP210g/l、FA1g/l、アンモニア0.08g/l（NH₃/ASP=380ppm）、pH9であった。

【0063】【実施例2】

(B2) 実施例1(A1)で得られた酵素反応液1Lに、顆粒状の水酸化ナトリウムを50g（ASPに対して0.98倍モル）加えて、これが溶解するまで静かに攪拌した。

【0064】(C2) 500mlのガラス製フラスコを塔底部としたガラス製蒸留塔（段数=10段）に、(B2)で得られた酵素反応液を、600ml/時で供給し、以下の条件で蒸留した。塔底温度80℃、塔頂温度15℃、塔頂圧力380mmHgの条件下、環流比5、塔底の滞留時間0.5時間にて蒸留操作を行った。その結果、塔底からの抜き出し液は、ASP203g/l、FA1g/l、アンモニア0.7g/l（NH₃/ASP=3500ppm）、pH7.5であった。

【0065】【実施例3】

(A3) 参考例(2)により得たアスパルターゼ活性を有するプレバクテリウム・フラバム MJ-233-

AB-41 (FERM BP-1498)、および通常の培養方法により得たマレイン酸イソメラーゼ活性を有するアルカリゲネス・フェカリエス IFO-12669を含むそれぞれの液の限外ろ過膜(旭化成社製-ACV-3050)による濃縮菌体液60g(湿菌体約50重量%)づつを、反応液(マレイン酸150gおよび、25%アンモニア水220mlに水を加えて全量を1000mlとした水溶液、pH9)に添加して、30℃で24時間反応させた。反応終了後、限外ろ過膜により菌体を除去し、得られたろ液を分析したところASPが170g/l(理論収量の98%以上)、MA1g/l、FA1g/l、アンモニア28g/l(NH₃/ASPモル比1.3、pH9)であった。

【0066】(B3)(A3)で得られた酵素反応液1Lに、顆粒状の水酸化ナトリウムを60g(ASPに対して1.17倍モル)加えて、これが溶解するまで静かに攪拌した。

【0067】(C3)500mlのガラス製フラスコを塔底部としたガラス製蒸留塔(段数=10段)に、(B1)で得られた酵素反応液を、600ml/時で供給し、以下の条件で蒸留した。塔底温度80℃、塔頂温度15℃、塔頂圧力380mmHgの条件下、環流比5、塔底の滞留時間0.5時間にて蒸留操作を行った。その結果、塔底からの抜き出し液は、ASP215g/l、FA1g/l、アンモニア0.07g/l(NH₃/ASP=330ppm)、pH9であった。

【0068】〔実施例4〕化合物C-1(エチレンジアミン-N,N'-ジコハク酸)の合成

実施例1(A1)で得られた酵素反応液78ml(ASP0.1mol含有)に34%水酸化ナトリウム水溶液23.5g(NaOH0.2mol)を加えた後、減圧下で含有されるアンモニアを除き、全体量が85gになるまで濃縮した。イオンクロマトグラフィーによる分析ではアンモニアは10mg/L以下であった。この溶液をオートクレープに移し、水を加えて全体量を95.20gとし、ジクロロエタン2.50g(0.25mol)を加えた。120℃にて5時間反応後、高速液体クロマトグラフィー分析を行ったところ、ASP転化率44.7%、エチレンジアミン-N,N'-ジコハク酸(以下、EDDSと略記する)収率32.6%、選択率72.9%の結果を得た。この反応液を室温まで冷却し、水100mlを加えた後、36%塩酸を添加して、反応液のpHを3.5に調整した。約5℃に冷却し、1時間放置後、1と同様に析出した結晶を回収し、EDDSの結晶6.2g(純度70.1%、EDDS0.015mol、回収率91.1%)を得た。得られたED

DS結晶を再び水170ml中に懸濁させ、30%水酸化ナトリウム水溶液を添加して、溶液のpHを6.0に調整した。EDDS結晶は溶解し、均一な溶液となった。この溶液中に36%塩酸を室温にて添加し、pHを3.8に調整し、一晩放置後、析出した結晶をろ別し、純度100%のEDDS3.6g(0.012mol)を得た。

【0069】〔実施例5〕反応時に臭化カリウム0.60g(0.005mol)を添加した他は実施例4と同様に反応を行ったところ、ASP転化率は43.7%、EDDS収率は40.2%(対ASP値)であり、選択率は92.0%であった。上記の反応液を室温まで冷却し、36%塩酸を添加して反応溶液のpHを4.0に調整した。この溶液を約5℃まで冷却し、1時間放置後、析出した結晶をろ別、水洗、乾燥し、EDDSの結晶6.2g(純度66.0%、EDDS0.014mol、回収率69.7%)を得た。

【0070】〔実施例6〕N-ラウロイル-L-アスパラギン酸の合成

(A1)で得られた酵素反応液78ml(ASP0.1mol含有)に34%水酸化ナトリウム水溶液23.5g(NaOH0.2mol)を加えた後、減圧下で含有されるアンモニアを除き、全体量が40gになるまで濃縮した。イオンクロマトグラフィーによる分析ではアンモニアは10mg/L以下であった。この溶液を4つ口フラスコに移し、アセトン25mlを加えて反応液を5℃に冷却した。ラウロイルクロライド18.2g(83mmol)、34%水酸化ナトリウム水溶液9.75gを同時に1時間かけて滴下した。その間反応温度は5~10℃、pHを11~12に保った。その後1時間室温までゆっくり温度を上げながら攪拌した。得られた溶液を高速液体クロマトグラフィーにて分析したところ、N-ラウロイル-L-アスパラギン酸の生成量は23.4g(収率90%)であった。この溶液に、N-ラウロイル-L-アスパラギン酸ジナトリウム塩の濃度として6重量%になるように水で希釈し、ここに10N硫酸をpH5.8になるように添加した。析出した結晶を回収したところ、N-ラウロイル-L-アスパラギン酸モノナトリウム塩が24.4g得られた。

【0071】

【発明の効果】本発明の方法によれば、L-アスパラギン酸アンモニウム塩から、各種N-置換誘導体製造反応に用いることのできるL-アスパラギン酸のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩水溶液を工業的に製造するに当たり、L-アスパラギン酸の晶析操作を経ることなく簡便に製造することができ効率的である。

フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁶ 識別記号

C 0 7 C 233/47

271/22

309/49

// (C 1 2 P 13/20

C 1 2 R 1:13)

F I

C 0 7 C 233/47

271/22

309/49

(72) 発明者 岡野 一哉

茨城県稲敷郡阿見町中央八丁目 3 番 1 号

三菱化学株式会社筑波研究所内

(72) 発明者 矢部 晃子

茨城県稲敷郡阿見町中央八丁目 3 番 1 号

三菱化学株式会社筑波研究所内

(72) 発明者 岩根 寛

茨城県稲敷郡阿見町中央八丁目 3 番 1 号

三菱化学株式会社筑波研究所内